ОРИГІНАЛЬНА СТАТТЯ

УДК: 616. 36-003. 826-07

ЗАСТОСУВАННЯ НЕІНВАЗИВНИХ БІОМАРКЕРІВ ТА МІСЦЕ ЦИТОКЕРАТИНУ 18 У ДІАГНОСТИЦІ ПАЦІЄНТІВ З НЕАЛКОГОЛЬНОЮ ЖИРОВОЮ ХВОРОБОЮ ПЕЧІНКИ

Динник Н.В.

Національний медичний університет імені О.О.Богомольця, м. Київ, Україна

Мета дослідження: *1. Визначення найоптимальніших неінвазивних методів діагностики ступеня стеатозу та фіброзу печінки у клінічній практиці.*
2. Визначення діагностичної цінності ЦК 18 порівняно з валідизованими клінічними біомаркерами ступеня стеатозу, запалення та фіброзу печінки.
3. Здійснення кореляційного аналізу ЦК 18 з антропометричними даними та відносним вмістом жиру в печінці, визначеного за допомогою біоелектричної імпедансометрії.
Матеріали та методи: *Всього досліджено 50 пацієнтів. Критерії включення у дослідження: пацієнти з встановленим діагнозом неалкогольна жирова хвороба печінки згідно діючих вітчизняних та міжнародних протоколів, вік- 18-65 років. У дослідженні застосовувались наступні методи:*

- **загально клінічні методи обстеження** – збір анамнезу, огляд пацієнта;
- **антропометричні:** вимірювання зросту з використанням ростоміру, маси тіла – ваги Omron BF-511, обвід талії, за допомогою сантиметрової стрічки;
- **клініко-лабораторні індекси;**
- **біохімічні:** печінкові проби, ліпідограма, глюкоза крові – Реагенти Human, аналізатор Humalyser 2000, фрагменти М30 цитокератину 18 за допомогою реактивів TPS- Elisa – імуноферментним методом (тканинний специфічний поліпептидний антиген, цитокератин 18, IDL);
- **інструментальні**: біоелектрична імпедансометрія за допомогою приладу OMRON BF36, ультразвукове обстеження в В-режимі за домогою приладу Toshiba Aplio XG.

Використано контент-аналіз, метод системного та порівняльного аналізу, бібліосемантичний метод вивчення актуальних наукових досліджень стосовно практики застосування неінвазивних методів оцінки стеатозу та фіброзу печінки при НАЖХП. Всього проаналізовано 73 джерела англійською та українською мовами (PubMed-NCBI, Medline, CochraneLibrary, EMBASE, ResearchGate), з них відібрано 25, в яких висвітлені неінвазивні методи діагностики з доведеною високою чутливістю та специфічністю при НАЖХП.
Результати: *В даній роботі висвітлено клініко-лабораторні та інструментальні тести, доступні методи візуалізації, біомаркери і складні формули як інструмент для прогнозування стеатозу, стеатогепатиту та фіброзу. Ультразвукова діагностика є першочерговим діагностичним інструментом для верифікації стеатозу печінки, проте його чутливість у встановленні саме ступеню стеатозу та попередження розвитку стеатогепатиту може бути підвищена за рахунок поєднання з іншими неінвазивними тестами. Біомаркер Цитокератин-18 є перспективним і точним неінвазивним параметром для діагностики неалкогольного стеатогепатиту (НАСГ). Встановлення ступеня фіброзу печінки являє собою найбільш важливу прогностичну проблему. Найбільш вивчені неінвазивні методи: fibrometer, FIB-4, NAFLD-fibrosis test оцінка фіброзом та еластографія.*
При проведенні кореляційного аналізу рівня ЦК 18 та валідизованими клінічними індексами оцінки ступеня стеатозу встановлено прямий сильний кореляційний зв'язок між валідизованими клінічними індексами ступеня стеатозу печінки Steatotest ($r=0,76$, $p<0,05$), FLI ($r=0,74$ $p<0,05$) та рівнем ЦК18, що свідчить про патогенетичну роль апоптозу при НАЖХП.
При оцінці ступеня запалення у даної групи пацієнтів за допомогою NASH –тесту – встановлено прямий сильний кореляційний зв'язок ($r=0,72$, $p<0,05$) з рівнем ЦК 18 навіть за нормальних показників трансаміназ, що свідчить про прогностичну цінність ЦК 18 у розвитку НАСГ.
В той же час встановлено відсутність кореляції ЦК 18 зі ступенем фіброзу печінки визначеного за допомогою NAFLD-fibrosis score та еластографією хвилі зсуву за допомогою УЗД, що свідчить про незалежну діагностичну цінність ЦК 18.

Висновки: *Серед неінвазивних інструментальних методів діагностики стеатозу печінки найоптимальнішим є Ультразвуковий метод діагностики. Серед клініко-лабораторних індексів найбільшою чутливістю та специфічністю володіють Fatty liver index та Steatotest для оцінки ступеня стеатозу печінки та для оцінки ступеня фіброзу печінки - NAFLD-fibrosis score. Для прогнозування розвитку неалкогольного стеатогепатиту найбільш чутливими є NASH-тест та визначення неінвазивного біомаркеру запалення та апоптозу Цитокератину 18 фрагментів М30.*

ЦК 18 може бути незалежним неінвазивним біомаркером ступеня стеатозу та прогнозування НАСГ у пацієнтів з вісцеральним ожирінням та показниками трансаміназ в межах норми. Визначення ЦК18 може бути не лише діагностичним маркером але і маркером оцінки ефективності динаміки лікування.

Ключові слова: *неалкогольна жирова хвороба печінки, неалкогольний стеатогепатит, неінвазивні біомаркери стеатозу та фіброзу печінки, цитокератин 18*

Вступ

Неалкогольна жирова хвороба печінки(НАЖХП) є найпоширенішою серед хронічних захворювань печінки у західних країнах та є однією з трьох найпоширеніших причин трансплантації печінки у США. Попри переважно доброякісний перебіг, НАЖХП може призводити до запалення та апоптозо-некрозу гепатоцитів, неалкогольного стеатогепатиту (НАСГ) серед 20-30% хворих. Дані пацієнти мають високий ризик розвитку фіброзу печінки, та у 1/5 пацієнтів НАЖХП може призводити до розвитку цирозу печінки. Серед розвинених країн НАЖХП зустрічається у однієї з трьох осіб середнього віку. Крім того проблема стеатозу печінки виходить за межі лише одного органу, оскільки при НАЖХП підвищується ризик серцево-судинних захворювань та їх летальності, і практично дублює ризик розвитку цукрового діабету 2 типу, незалежно від важкості ступеня ураження печінки. Золотим стандартом для діагностики НАЖХП є біопсія печінки, проте дана процедура є інвазивною і доволі часто асоціюється з ризиком появи ускладнень. Саме тому вченими усього Світу та України зокрема протягом останніх років широко дискутуються можливості застосування неінвазивних методів діагностики для якісної та кількісної верифікації ступеня стеатозу та фіброзу печінки при НАЖХП [1].

У США НАЖХП в 3-5 разів більш поширена у чоловіків, ніж у жінок, такі статеві відмінності можуть бути частково пов'язані з тим, що чоловіки мають вищий індекс маси тіла (ІМТ) і що деякі пацієнти чоловічої статі з НАЖХП вживають більше алкоголю, ніж зазначають. Поширеність НАЖХП в США особливо висока у людей іспаномовних (28%) або азіатського (20-30%) походження. У зв'язку з різким збільшенням поширеності ожиріння у США і у багатьох інших промисловорозвинених країнах, спостерігається також різке збільшення поширеності НАЖХП і НАСГ [2]. У США майже серед 50% дітей з ожирінням присутня НАЖХП. У багатьох країнах понад 80% пацієнтів НАЖХП мають підвищений ІМТ і 30-40% страждають на ожиріння; близько 50% мають ознаки резистентності до інсуліну, 20-30% – цукровий діабет 2 типу, 80% – гіперліпідемію, 30-60% – артеріальну гіпертензію. Відповідно існує сильний зв'язок між НАЖХП, НАСГ і метаболічним синдромом.. За статистикою, порівняно з пацієнтами з НАЖХП пацієнти з НАСГ старші, більш огрядні і частіше мають високий титр сироваткових печінкових ферментів, цукровий діабет і метаболічний синдром [12].

Дослідження з Італії та Японії показали, що переважання НАЖХП у загальній популяції коливається від 3 до 58% (у середньому – 23%). Висока варіабельність статистичних даних можлива через соціально-економічну відмінність вивчених популяцій та різницю збору статистичних даних. При гістологічній верифікації у потенційних донорів печінки поширеність НАЖХП відповідає 20-51% [11].

В Dallas Heart Study при дослідженні за допомогою магнітно-резонансної спектроскопії поширеність НАЖХП в загальній популяції становила 31%. Захворюваність на НАЖХП на основі дослідження амінотрансфераз без сонографічного чи гістологічного підтвердження коливається між 7 та 11%, проте амінотрансферази можуть відповідати нормальним значенням у хворих на НАЖХП [15].

Завдання дослідження:

Визначити діагностичну цінність ЦК 18 порівняно з валідизованими клінічними біомаркерами ступеня стеатозу, запалення та фіброзу печінки.

Здійснити кореляційний аналіз ЦК 18 з антропометричними даними та відносним вмістом жиру в печінці, визначеного за допомогою біоелектричної імпедансометрії.

Матеріали та методи.

Всього досліджено 50 пацієнтів. *Критерії включення у дослідження:* пацієнти з встановленим діагнозом неалкогольна жирова хвороба печінки згідно діючих вітчизняних та міжнародних протоколів, вік- 18-65 років. Кожним пацієнтом була підписана поінформована згода на включення його у дослідження.

Критерії виключення:

пацієнти з історією вживання алкоголю понад 210 г/тиждень для чоловіків, 140 г/тиждень для жінок, пацієнти, у яких встановлені наступні патологічні стани:

- віруси гепатитів В,С,
- декомпенсований цироз печінки
- медикаментозно асоційована жирова хвороба печінки (оральні контрацептиви, аміодарон, метотрексат, тамоксифен)
- гепатоцелюлярна карцинома,
- аутоімунний гепатит,
- хвороба Вільсона- Коновалова
- пацієнти з цукровим діабетом, які перебувають на інсулінотерапії
- вагітність
- відмова пацієнта на будь-якому етапі дослідження

У дослідженні застосовувались наступні методи:

загально клінічні методи обстеження – збір анамнезу, огляд пацієнта;

антропометричні: вимірювання зросту з використанням ростоміру, маси тіла – ваги Omron BF-511, обвід талії, за допомогою сантиметрової стрічки.

Індекс маси тіла (IMT) обраховувався за допомогою загальноприйнятої формули – поділ маси тіла в кілограмах на квадрат зросту в метрах (кг/м^2).

Клініко-лабораторні індекси :

Індекс вісцерального ожиріння (VAI) обраховували за формулами:

для жінок: VAI = [обвід талії/ 36.58 + (1.89 Ч ІМТ)] х [Тригліцериди/0,81] х [1,52/Ліпопротеїди високої щільності],

для чоловіків: VAI = [обвід талії / 39.68 + (1.88 Ч ИМТ)] х [Триглиіцериди/1,03] х [1,31/ Ліпопротеїди високої щільності];

– ***"Fatty liver index":*** IMT, охват талії, тригліцериди, ГГТП

– ***"NAFLD fibrosis score":*** IMT, вік, наявність цукрового діабету, глюкоза крові, ПТІ, АЛТ, АСТ, тромбоцити = =–1,675 + 0,037вік + 0,094 IMT + 1,13 ГНТ + 0,99 АСТ/АЛТ – 0,013 тромбоциты – 0,66 альбумин.

"NASH test" (Фібромакс): Загальний білірубін, ГГТП, б2 макроглобулін, Аполіпротеїн А1, Гаптоглобулін, АЛТ

Біохімічні: печінкові проби, ліпідограма, глюкоза крові – Реагенти Human, аналізатор Humalyser 2000, фрагменти М30 цитокератину 18 за допомогою реактивів TPS-Elisa – імуноферментним методом (тканинний специфічний поліпептидний антиген, цитокератин 18, IDL) інструментальні: біоелектрична імпедансометрія за допомогою приладу OMRON BF36, ультразвукове обстеження в В-режимі за домогою приладу Toshiba Aplio XG.

Використано контент-аналіз, метод системного та порівняльного аналізу, бібліосемантичний метод вивчення актуальних наукових досліджень стосовно практики застосування неінвазивних методів оцінки стеатозу та фіброзу печінки при НАЖХП. Пошук джерел здійснено в науково-метричних медичних базах даних: PubMed-NCBI, Medline, CochraneLibrary, EMBASE, ResearchGate за ключовими словами: «неінвазивні методи діагностики», «неінвазивні біомаркери», «неалкогольна жирова хвороба печінки», «неалкогольний стеатогепатит», «неінвазивні методи оцінки стеатозу та фіброзу печінки» (англ. «non-invasive methods», «non-invasive biomarkers», «non-alcoholic fatty liver disease», «non-alcoholic steatohepatitis», «*non-invasive biomarkers of liver steatosis and fibrosis*»). Всього проаналізовано 73 джерела англійською та українською мовами, з них відібрано 25, в яких висвітлені неінвазивні методи діагностики з доведеною високою чутливістю та специфічністю при НАЖХП. Критеріями виключення були публікації іншими іноземними мовами, дослідження на тваринах, описи клінічних випадків.

Використання статистичних методів

Статистична обробка даних проводилась з застосуванням методів описової статистики за допомогою комп'ютерної програми MedStat. Статистичний аналіз кількісних даних проводили з використанням параметричних і непараметричних методів залежно від характеру розподілу даних - спочатку здійснювали попередню оцінку нормальності розподілу даних за критерієм Колмогорова-Смирнова. При нормальному розподілі значення представлені у вигляді середніх величин та їх стандартних відхилень (M±SD); для аналізу - параметричний критерій t-тест Стьюдента. При використанні статистичних методів і засобів аналізу за статистично значимі приймали відмінності при значеннях ризику помилки $p < 0,05$. Направленість та силу кореляційного зв'язку визначали за коефіцієнтом рангової кореляції Спірмена (rs).

Результати та обговорення.

При проведенні кореляційного аналізу рівня ЦК 18 та валідизованими клінічними індексами оцінки ступеня стеатозу встановлено прямий сильний кореляційний зв'язок між валідизованими клінічними індексами ступеня стеатозу печінки Steatotest (r=0,76, p<0,05), FLI (r=0,74 p<0,05) та рівнем ЦК18, що свідчить про патогенетичну роль апоптозу при НАЖХП.

При оцінці ступеня запалення у даної групи пацієнтів за допомогою NASH –тесту – встановлено прямий сильний кореляційний зв'язок (r=0,72, p<0,05) з рівнем ЦК 18

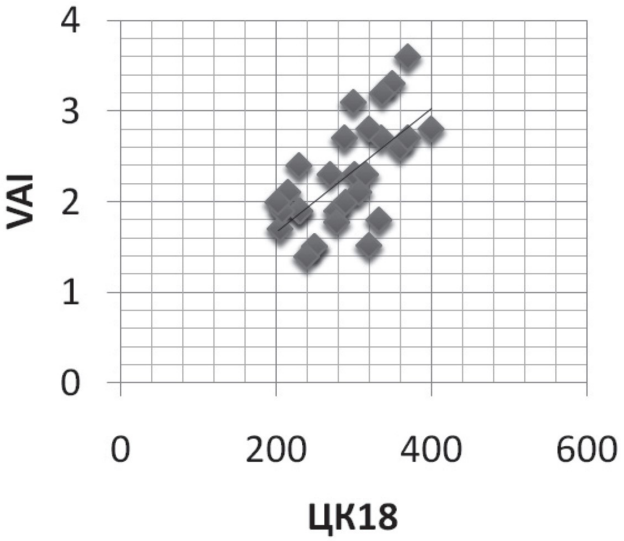

Рис1. Графік кореляційної залежності рівня Цитокератину 18 (ЦК18) з індексом вісцерального ожиріння (VAI)

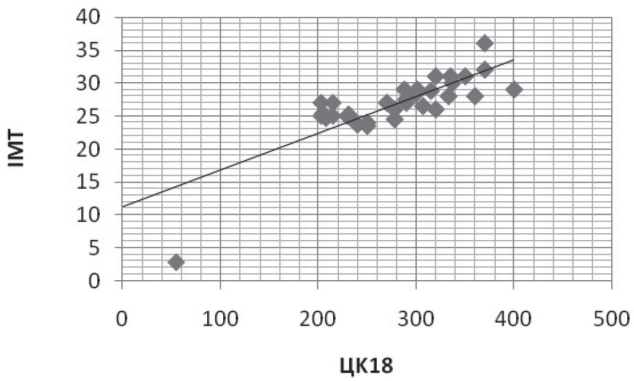

Рис2. Графік кореляційної залежності рівня Цитокератину 18 (ЦК18) з індексом маси тіла

навіть за нормальних показників трансаміназ, що свідчить про прогностичну цінність ЦК 18 у розвитку НАСГ.

В той же час встановлено відсутність кореляції ЦК 18 зі ступенем фіброзу печінки визначеного за допомогою NAFLD-fibrosis score та еластографією хвилі зсуву за допомогою УЗД, що свідчить про незалежну діагностичну цінність ЦК 18.

Рівень ЦК18 має прямий кореляційний зв'язок середньої сили з ІМТ (r=0,385), рівнем тригліцеридів (r=0,319) та сильний прямий кореляційний зв'язок з охватом талії (r=0,734) та індексом вісцерального ожиріння (r=0,766), що свідчить про патогенетичну роль саме вісцерального ожиріння у пацієнтів з НАЖХП.

Золотим стандартом для діагностики НАЖХП є біопсія печінки. Це єдиний спосіб безпосередньої верифікації наявного НАСГ та фіброзу печінки. Проте біопсія печінки має недоліки, оскільки вона є інвазивною процедурою, часто асоціюється з ризиком появи ускладнень. Також існують похибки у відборі проб для гістологічної верифікації та суб'єктивність патолога, що призводить до помилкового діагнозу в дуже значній кількості випадків. Навіть адекватна біопсія печінки покаже тільки 0,05 $см^3$ від органу, об'єм коливається між 800 і 1000 $см^3$, що відповідає менш ніж 1:50000 в загальному об'ємі [16]. Крім того, при НАЖХП стеатоз та фіброз печінки не розподіляється рівномірно. Саме тому існує багато різноманітних неінвазивних методів, які спрямовані на верифікацію НАЖХП, оцінку ступеня стеатозу печінки, прогнозування розвитку НАСГ та фіброзу печінки.

Надійність і значимість діагностичних тестів залежить від перебігу захворювання та характеристик популяції, де вони застосовуються. Достовірний скринінг-тест повинен володіти високою чутливістю (Se) у той час як діагностичний тест, який не лише верифікує, а й допомагає обрати подальшу тактику для пацієнта, повинен володіти і високою специфічністю (Sp). Найзагальніший підхід до оцінки діагностичного тесту був аналіз кривої робочої характеристики одержувача (ROC) та площі під ROC (AUROC), за допомогою яких можливо оцінити імовірність розрізнення істинно-позитивного тесту проти знаходження хибно-позитивних результатів. Коли AUROC вище ніж 0,8 – свідчить про високу точність. Чутливість та специфічність інваріантні для діагностичних тестів, вони можуть залежати від характеристик популяції (як вік, стать і тяжкість захворювання). Таким чином, порівняння AUROC різних тестів у різних дослідження з різними групами популяцій та статистичної обробки не є точним.

Кілька діагностичних панелей були запропоновані для верифікації, кількісної оцінки ступеня та прогнозування стеатозу печінки. Steatotest включає в себе 12 змінних у закритій формулі, яка містить $б_2$-макроглобулін, гаптоглобін, аполіпопротеїн А1. У дослідженні французьких вчених на когорті більше 700 пацієнтів даний тест показав достатню точність, з 0.79 AUROC для помірно-важкого стеатозу, достатня негативна прогностична цінність (NPV) – 93%, але незначна позитивна прогностична цінність (PPV) – 63%. Інша французька група вчених отримали подібні результати в 288 пацієнтів з ожирінням. Вчені під керівництвом професора Poynard здійснили мета-аналіз у пацієнтів з ожирінням та зробили ідентичні висновки.

Bedogni та співавт. вперше запропонували формулу розрахунку Fatty liver index (FLI) в 2006 році як алгоритм у дослідженні Dionysos Nutrition & Liver Study. Індекс варіює від 0 до 100 і розраховується через формулу, до якої входять значення ІМТ, окружності талії, тригліцериди і ГГТП. Використання даного індексу показали достатню точність у виявленні НАЖХП, він був використаний у декількох популяційних дослідженнях. Його основним показанням для застосування є епідеміологічні дослідження, у спробі уникнути ультразвукової верифікації. Нещодавно дослідження Cremona на популяції 2075 осіб середнього віку при спостереженні протягом 15 років показали, що FLI незалежно асоціюється з загальною, серцево-судинною та онкологічною смертністю.

Та ж група вчених також запропонувала параметр накопичення ліпідів (LAP), що включає в себе стать, окружність талії і рівень тригліцеридів. [25]

Нещодавно висвітлено результати дослідження NAFLD Liver Fat Score на фінській популяції з 95-відсотковою чутливістю та специфічністю. Як золотий стандарт була обрана магнітно-резонансна спектроскопія. Для розрахунку формули потрібні такі параметри: наявність метаболічного синдрому, та цукрового діабету 2 типу, інсулін натще, співвідношення АсАТ до АлАТ. Група з Нідерландів підтвердили дані результати [13]. Даний тест можна застосовувати при оцінці стеатозу, не вдаючись до радіологічних методів. Одними з найкращих тестів для діагностики стеатозу печінки залишаються інструмен-тальні. Ме-

Таблиця 1

Валідизовані тести для виявлення фіброзу при НАЖХП, засновані на рутинних клінічних та біохімічних аналізах

Тест	Параметри	AUC	Cut-offs	Чутливість	Специфічність
NFS	Наявність діабету, АсАТ/АлАТ, вік, ІМТ, тромбоцити, альбумін	0,82-0,88	<-1,455 >0,676	77% 43%	71% 96%
FIB-4	АлАТ, АсАТ, тромбоцити, вік	0,80	<1,30 >2,67	74% 33%	71% 98%
BARD	ІМТ, АсАТ/АлАТ, діабет	0.81	2	-	-
APRI	АсАТ, тромбоцити	0,82	1,0	67%	81%
NAFLD Fibrometer	Глюкоза, АлАТ, АсАТ, вага, вік, тромбоцити, феритин	0,93-0,94		78%	96%
Fibrotest	Вік, стать, білірубін, ГГТП, аполіпопротеїн А1, гаптоглобін, α_2-макроглобулін	0,81-0,92	>0,30 >0,70	92% 25%	71% 97%

тод ультразвукової діагностики (УЗД) є доступним методом, який застосовується у клінічних умовах,має наступні переваги: недорогий, широкодоступний і має 60-94% чутливості та 66-97% специфічності для стеатозу печінки [24]. Проте точність УЗ-методу знижується суттєво для верифікації м'яких форм стеатозу. У дослідженні 100 живих донорів для трансплантації печінки за допомогою УЗД не змогли виявити стеатоз печінки у разі ураження менше, ніж 10% гепатоцитів, виявлено лише 55% і 72% пацієнтів зі ступенем стеатозу 10-19% і 20-29% відповідно. Оскільки якісна ультразвукова верифікація стеатозу суб'єктивна, постійно вивчаються шляхи кількісної оцінки стеатозу печінки. Дослідження гепато-ренального індексу встановили 91% чутливості та 84% специфічності для печінкового стеатозу. Також була запропонована напівкількісна оцінка стеатозу – ультразвуковий індикатор жирової печінки (US FLI). Це вимагає наявності посиленої ехогенності печінки порівняно з ниркою серед інших параметрів. У разі відповідності шкали щонайменше 2 – дорівнює високій точності ідентифікації НАЖХП. Проте УЗД має ряд обмежень: неточність у встановленні стеатозу помірного ступеню, має лише до 67% PPV, оператор-залежний метод, з суттєвим зниженням чутливості нижче 50% та специфічності нижче 75% при морбідному ожирінні. Крім того, на оцінку рівня стеатозу можуть хибно впливати наявність фіброзу, некрозу, набряку і екстрапечінкової жирової тканини. У нормі печінкові вени при допплерівському дослідженні мають трифазний сигнал, в той час при НАЖХП він змінюється на двофазний або монофазний, ймовірно, в результаті стиснення печінкових вен збільшеними гепатоцитами [24].

Комп'ютерна томографія (КТ) має аналогічну точність, як і ультразвуковий метод, будучи більш точним у разі вогнищевого стеатозу, володіє 100% специфічності та низьким рівнем чутливості. КТ має кілька обмежень, що робить її клінічно неприйнятно для скринінгу стеатозу: піддає пацієнтів радіаційному впливу, інші дифузні захворювання печінки можуть призвести до помилкового діагнозу стеатозу, вміст печінкового заліза посилює згасання, викликаючи хибнонегативні для стеатозу, і значення загасання є сканер-залежними, не стандартизовані між різними виробниками [19]. Магнітно-резонансна томографія (МРТ) перевершує ультразвукову діагностику у виявленні і кількісній ідентифікації навіть незначної жирової інфільтрації, у змозі виявити до 3% стеатозу з AUROC 0,95-0,97, чутливістю 92-100% і 92-97% специфічністю. Висвітлені думки, що магнітно-резонансна спектроскопія (МРС) може бути новим золотим стандартом якісної та кількісної верифікації печінкового стеатозу, оминаючи біопсію печінки, проте даний метод є достатньо дорогий та нешироко доступний. Точність МРТ знижується при наявності суттєвого фіброзу.

Контрольований параметр загасання (CAP), який можна оцінити за допомогою апарату FibroScan, дозволяє більш точно кількісно оцінити рівень стеатозу печінки [14]. ретроспективно оцінили CAP в 115 пацієнтів, показуючи AUROCs 0,91 і 0,95 для стеатозу вище, ніж 10% і 33% відповідно, і достатню точність в класифікації стеатозу. CAP вирізняється більшою точністю, ніж Steatotest, FLI або Hepatic Steatosis Index. FLI використовує рутинні клінічні параметри і може бути дуже корисним у великомасштабних епідеміологічних досліджень, оскільки це дозволяє уникнути радіологічного впливу і є широкодоступним [13].

Апоптоз клітин печінки посідає провідну роль у патогенезі НАЖХП та фрагменти цитокератину 18 М30 на сьогодні визначаються науково-медичною спільнотою як один з найголовніших біомаркерів НАЖХП. [5] Попередні роботи встановили, що сироватковий рівень фрагментів цитокератину 18 М30 вищий у пацієнтів з НАСГ порівняно зі стеатозом печінки та може бути маркером диференціювання даних двох станів. Діагностична цінність фрагментів цитокератину 18 у верифікації НАСГ з AUC показниками від 0,77-0,93. [8]

Проте залишається відкритим для науково-медичної спільноти визначення кас паз-розщепленого цитокератину 18 для верифікації НАСГ з AUC значеннями 0,65 та 0,68 були обраховані для попередження НАСГ або фіброзу ретроспективно у пацієнтів з НАЖХП. [23]

Також рівень цитокератину 18 був значно вищим у пацієнтів з НАЖХП з важким фіброзом печінки порівняно з тими, у кого фіброз був відсутній або початкових ступенів. Крім того, рівень фрагментів цитокератину 18 корелює зі ступенем стеатозу, вогнищевого запалення, балонування та точніше відображає гістологічну шкалу активності НАЖХП NAS (NAFLD Activity Score) [15] порівняно з рівнем АЛТ. Зміни фрагментів М30 Цитокератину 18 паралельно відображають NAS [5], що не було відзначено для рівня амінотрансфераз.

Інше дослідження підтвердило кореляцію зменшення фрагментів цитокератину 18 М30 з гістологічним покращенням NAS у порівнянні з групою без гістологічного покращення. [30]

Також встановлено паралельне значиме зниження показників фрагментів цитокератину 18 М30 та амінотрансфераз у пацієнтів з НАЖХП після баріатричної хірургії. [8]

Висновки.

Серед неінвазивних інструментальних методів діагностики стеатозу печінки найоптимальнішим є Ультразвуковий метод діагностики. Серед клініко-лабораторних індексів найбільшою чутливістю та специфічністю володіють Fatty liver index та Steatotest для оцінки ступеня стеатозу печінки та для оцінки ступеня фіброзу печінки - NAFLD-fibrosis score та еластографія печінки. Для прогнозування розвитку неалкогольного стеатогепатиту найбільш чутливими є NASH-тест та визначення неінвазивного біомаркеру запалення та апоптозу Цитокератину 18 фрагментів М30.

ЦК 18 – незалежний неінвазивний біомаркер ступеня стеатозу та прогнозування НАСГ у пацієнтів з вісцеральним ожирінням та рівнем трансаміназ в межах норми. ЦК18 може застосовуватись у клінічній практиці для верифікації НАЖХП та у оцінці динаміки терапії.

Конфлікт інтересів. Немає ніякого конфлікту інтересів який міг би завдати шкоди неупередженості дослідження.

Дане дослідження не отримало ніякої фінансової підтримки від державної, громадської чи комерційної організації.

ЛІТЕРАТУРА

1. Adams L.A. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study [Text] / L.A. Adams, J.F. Lymp, S.J. Sauver // Gastroenterology. – 2005. – Vol. 129. – P. 113-121.
2. An obesity associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest [Text] / P.J. Turnbaugh, R.E. Ley, M.A. Mahowald [et al.] // Nature. – 2006. – Vol. 444. – P. 1027-1031.
3. Angulo P. et al. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD // Hepatology. – 2007. – T. 45. – №. 4. – P. 846-854.
4. Bahcecioglu I.H. Demographic and clinicopathological characteristics of nonalcoholic fatty liver disease in the east-southeastern Anatolia regions in Turkey [Text] / I.H. Bahcecioglu, M. Koruk, O. Yilmaz // Med. Princ. Pract. – 2006. – Vol. 15. – P. 62-68.
5. Cusi K. Role of obesity and lipotoxicity in the development of nonalcoholic steatohepatitis: pathophysiology and clinical implications [Text] / K. Cusi // Gastroenterology. – 2012. – Vol. 142. – P. 711-725.
6. Day C.P. Natural history of NAFLD: remarkably benign in the absence of cirrhosis [Text] / C.P. Day // Gastroenterology. – 2005. – Vol. 129. – P. 375-378.
7. European Association for the Study of the Liver et al. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the Management of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease //Obesity Facts. – 2016. – T. 9. – №. 2. – P. 65-90.
8. Festi D. et al. Review article: the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease–availability and accuracy of noninvasive methods / /Alimentary pharmacology & therapeutics. – 2013. – T. 37. – №. 4. – P. 392-400.
9. Friedrich-Rust M. et al. Acoustic radiation force impulse-imaging and transient elastography for non-invasive assessment of liver fibrosis and steatosis in NAFLD //European journal of radiology. – 2012. – T. 81. – №. 3. – P. e325-e331.
10. Hyaluronic acid, an accurate serum marker for severe hepatic fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease [Text] / A. Suzuki, P. Angulo, J. Lymp [et al.] // Liver Int. – 2005. – Vol. 25. – P. 779-786.
11. Inflammasome-mediated dysbiosis regulates progression of NAFLD and obesity [Text] / J. Henao-Mejia, E. Elinav, C. Jin [et al.] / / Nature. – 2012. – Vol. 482. – P. 179-185.
12. Karlas T. et al. Non-invasive assessment of hepatic steatosis in patients with NAFLD using controlled attenuation parameter and 1 h-mr spectroscopy //PLoS One. – 2014. – T. 9. – №. 3. – P. e91987.
13. Kotronen A. et al. Prediction of non-alcoholic fatty liver disease and liver fat using metabolic and genetic factors // Gastroenterology. – 2009. – T. 137. – №. 3. – P. 865-872.
14. Lŭdinghen V. et al. Noninvasive diagnosis of liver steatosis using controlled attenuation parameter (CAP) and transient elastography //Liver International. – 2012. – T. 32. – №. 6. – C. 911-918.
15. Managing nonalcoholic fatty liver disease. Recommendations for family physicians [Text] / I. Grattagliano, P. Portincasa, V.O. Palmieri, G. Palasciano // Can. Fam. Physician. – 2007. – Vol. 53. – P. 857-863.
16. Non-invasive diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease. A critical appraisal [Text] / M. Machado, H. Cortez-Pinto // J. Hepatol. – 2013. – Vol. 58. – P. 1007-1019.
17. Obesity alters gut microbial ecology [Text] / R.E. Ley, F. Bòckhed, P. Turnbaugh [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2005. – Vol. 102. – P. 11070-11075.
18. Racial and ethnic distribution of nonalcoholic fatty liver in persons with newly diagnosed chronic liver disease [Text] / S.R. Weston, W. Leyden, R. Murphy [et al.] // Hepatology. – 2005. – Vol. 41. – P. 372-379.
19. Schwenzer N. F. et al. Non-invasive assessment and quantification of liver steatosis by ultrasound, computed tomography and magnetic resonance //Journal of hepatology. – 2009. – T. 51. – №. 3. – P. 433-445.
20. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology [Text] / N. Chalasani, Z. Younossi, J.E. Lavine [et al.] // Gastroenterology. – 2012. – Vol. 58. – P. 2005-2023.
21. The diagnostic value of biomarkers (SteatoTest) for the prediction of liver steatosis [Text] / T.Poynard, V.Ratziu, S.Naveau [et al.] // Comp. Hepatol. – 2005. – Vol. 4. – ID 10.
22. The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease [Text] / M. Hamaguchi, T. Kojima, N. Takeda [et al.] // Ann. Intern. Med. – 2005. – Vol. 143. – P. 722-728.
23. Tuyama A.C. Non-alcoholic fatty liver disease [Text] / A.C. Tuyama, C.Y. Chang // J. Diabetes. – 2012. – Vol. 4. – P. 266-280.
24. Ultrasonographic fatty liver indicator, a novel score which rules out NASH and is correlated with metabolic parameters in NAFLD [Text] / S. Ballestri, A. Lonardo, D. Romagnoli [et al.] // Liver Int. – 2012. – Vol. 32. – P.1242-1252.
25. Yki-Jòrvinen H. Diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) //Diabetologia. – 2016. – T. 59. – №. 6. – P. 1104-1111.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НЕИНВАЗИВНЫХ БИОМАРКЕРОВ И МЕСТО ЦИТОКЕРАТИНА 18 В ДИАГНОСТИКЕ ПАЦИЕНТОВ С НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ

Н.В.Дынник

Национальный медицинский университет имени А.А.Богомольца, г. Киев, Украина

Цель исследования: 1.Усовершенствование диагностического алгоритма НАЖБП путем оценки современных возможностей неинвазивной диагностики данного патологического состояния. Определение оптимальных неинвазивных методов диагностики степени стеатоза и фиброза печени в клинической практике.

2. Определение диагностической ценности ЦК 18 по сравнению с валидизованимы клиническими биомаркерами степени стеатоза, воспаления и фиброза печени. 3. Осуществление корреляционного анализа ЦК 18 с антропометрическими данными и относительным содержанием жира в печени, определенного с помощью биоэлектрической импедансометрии.

USING NON-INVASIVE BIOMARKERS AND PLACE OF CYTOKERATIN 18 IN DIAGNOSIS PATIENTS WITH NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

N.V. Dynnyk

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

The **aim** of this study was: 1.Determination of optimum degree of non-invasive diagnostic methods steatosis and liver fibrosis in clinical practice. 2. Determination of the diagnostic value of the CK 18, compared with clinical biomarkers of the degree of steatosis, inflammation and fibrosis of the liver. 3. Implementation of the correlation analysis of the CK 18 with anthropometric data and the relative content of fat in the organism by a bioelectrical impedance.

We investigated 50 patients. Inclusion criteria in the study: patients with an established diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease according to current national and international protocols, age-range 18-65 years. The study used the following methods: general clinical examination methods - history taking, examination of the patient; Anthropometric, Clinical and laboratory indices,

Материалы и методы: Всего исследовано 50 пациентов. Критерии включения в исследование: пациенты с установленным диагнозом неалкогольная жировая болезнь печени согласно действующих отечественных и международных протоколов, возраст- 18-65 лет. В исследовании применялись обще клинические методы обследования, антропо-метрические, клинико-лабораторные индексы; биохимические, инструментальные методы. Использо-ваны контент-анализ, метод системного и сравни-тельного анализа, библиосемантичний метод изучения актуальных научных исследований относительно практики применения неинвазивных методов оценки стеатоза и фиброза печени при НАЖХП. Всего проанализировано 73 источника английском и украинском языках (PubMed-NCBI, Medline, CochraneLibrary, EMBASE, ResearchGate), из них отобрано 25, в которых освещены неинвазивные методы диагностики с доказанной высокой чувствительностью и специфичностью при НАЖХП.

Результаты: Ультразвуковая диагностика является первоочередной диагностическим инструментом для верификации стеатоза печени, однако его чувствительность в установлении именно степени стеатоза и предупреждения развития стеатогепатита может быть повышена за счет сочетания с другими неинвазивными тестами. Биомаркер цитокератин-18 является перспективным и точным неинвазивным параметром для диагностики неалкогольного стеатогепатита (НАСГ). Постановка фиброза печени представляет собой наиболее важную прогностическую проблему: наиболее изучены неинвазивные методы: fibrometer, FIB-4, NAFLD-fibrosis test оценка фиброзом и эластография. При проведении корреляционного анализа уровня ЦК 18 и валидизованимы клиническими индексами оценки степени стеатоза установлена прямая сильная корреляционная связь между валидизованимы клиническими индексами степени стеатоза печени Steatotest (r = 0,76, p <0,05), FLI (r = 0,74 p <0,05) и уровнем ЦК18, что свидетельствует о патогенетической роли апоптоза при НАЖБП.При оценке степени воспаления у данной группы пациентов с помощью NASH-теста - установлена прямая сильная корреляционная связь (r = 0,72, p <0,05) с уровнем ЦК 18 даже при нормальных показателей трансаминаз, что свидетельствует о прогностическую ценность ЦК 18 в развитии НАСГ.В то же время установлено отсутствие корреляции ЦК 18 со степенью фиброза печени определенного с помощью NAFLD-fibrosis score и эластография волны сдвига с помощью УЗИ, свидетельствует о независимой диагностическую ценность ЦК 18.

Выводы: Среди неинвазивных инструментальных методов диагностики стеатоза печени оптимальным является Ультразвуковой метод диагностики. Среди клинико-лабораторных индексов наибольшей чувствительностью и специфичностью обладают Fatty liver index и Steatotest для оценки степени стеатоза печени и оценки степени фиброза печени - NAFLD-fibrosis score. Для прогнозирования развития неалкогольного стеатогепатита наиболее чувствительными являются NASH-тест и определение неинвазивного биомаркеров воспаления и апоптоза цитокератины 18 фрагментов М30.

ЦК 18 может быть независимым неинвазивным биомаркером степени стеатоза и прогнозирования НАСГ у пациентов с висцеральным ожирением и показателями трансаминаз в пределах нормы. Определение ЦК18 может быть не только диагностическим маркером но и маркером оценки эффективности динамики лечения.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени, неалкогольный стеатогепатит, неинвазивные биомаркеры стеатоза и фиброза печени, цитокератин 18.

Biochemical, Reagents Human, analyzer Humalyser 2000 M30 fragments of cytokeratin 18 by TPS- Elisa reagents - ELISA (tissue polypeptide specific antigen, cytokeratin 18 IDL), Instrumental metods.

We have used content analysis, method of systematic and comparative analysis in studying the current 73 scientific studies published in English or Ukrainian (PubMed-NCBI, Medline, CochraneLibrary, EMBASE, ResearchGate), of which selected 25 works which used non-invasive methods of diagnosis with proven high sensitivity and specificity in diagnosis NAFLD.

The results:

During the correlation analysis of the level of the CK 18 and clinical indices of the degree of steatosis assessment of a direct strong correlation between clinical indices of the degree of hepatic steatosis Steatotest (r = 0,76, p <0,05), FLI (r = 0,74 p < 0.05) and the level of CK18 that suggests pathogenetic role of apoptosis in NAFLD. In assessing the degree of inflammation in these patients using the NASH-test - a direct strong correlation (r = 0,72, p <0,05) with the CK 18 level, even with normal transaminases, indicating the predictive value of the CK18 in developing NASH. At the same time it found no correlation CK 18 with a degree of liver fibrosis determined by a NAFLD-fibrosis score and shear wave elastography using ultrasound, indicative of independent diagnostic value of the CK 18 level.

Several non-invasive methods aim at diagnosing and quantifying hepatic steatosis, while others were designed to predict NASH or significant/advanced fibrosis. Ultrasonography still represents the first-line diagnostic tool for simple liver steatosis; its sensitivity could be enhanced by the complex biochemical scores. Serum cytokeratin-18 is a promising and accurate non-invasive parameter for the diagnosis of non-alcoholic steatohepatitis (NASH). The staging of liver fibrosis still represents the most important prognostic problem: the most accurate estimating methods are FibroMeter, FIB-4, NAFLD fibrosis score and transient elastography.

Conclusions: Among non-invasive instrumental methods of diagnosis of hepatic steatosis is optimal ultrasonic diagnostic method. Among the clinical and laboratory indices the highest sensitivity and specificity have Fatty liver index and Steatotest to assess the degree of liver steatosis and for the assessing the degree of liver fibrosis - NAFLD-fibrosis score. To predict the development of nonalcoholic steatohepatitis are the most sensitive NASH-test and determination of non-invasive biomarkers of inflammation and apoptosis cytokeratins 18 M30 fragments.CK 18 can be an independent non-invasive biomarker for predicting the degree of steatosis and NASH in patients with visceral obesity and normal level of transaminases. Determination CK18 may be not only diagnostic marker and also can be used as a marker of evaluating the effectiveness of treatment in dynamics.

Keywords: non-alcoholic fatty liver disease, non-alcoholic steatohepatitis, non-invasive biomarkers of liver steatosis and fibrosis.